

PCT / IB 00 / 00608

28.07.00

09/937498

日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 14 AUG 2000

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 4月 2日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第096443号

出願人

Applicant (s):

住友製薬株式会社

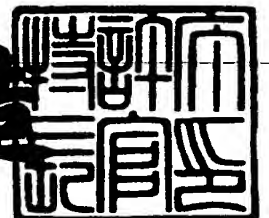
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 7月14日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3055575

【書類名】 特許願

【整理番号】 165157

【提出日】 平成11年 4月 2日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61M 37/00

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市蔵垣内 1 - 3 - 4 5 住友製薬株式会社内

 【氏名】 森田 繁俊

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市蔵垣内 1 - 3 - 4 5 住友製薬株式会社内

 【氏名】 田中 克実

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市蔵垣内 1 - 3 - 4 5 住友製薬株式会社内

 【氏名】 吉本 篤史

【特許出願人】

 【識別番号】 000183370

 【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 2 番 8 号

 【氏名又は名称】 住友製薬株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100062144

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 青山 葆

【選任した代理人】

 【識別番号】 100086405

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 河宮 治

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 013262

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9809450

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器、及びその注射用カートリッジ、並びにその保存方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器であって、
第 1 の開口部と第 2 の開口部とを有するとともに、これら第 1 の開口部と第 2 の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器と、

上記第 1 の開口部を閉鎖する第 1 の閉鎖部材と、

上記筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続したシールを形成した状態で上記内腔に沿って移動可能に設けられ、上記第 1 の閉鎖部材との間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容する密閉空間を形成する第 2 の閉鎖部材とを有し、

上記第 2 の閉鎖部材は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とするヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器。

【請求項 2】 上記第 1 の閉鎖部材が、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする請求項 1 に記載のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器。

【請求項 3】 上記多価金属イオンの溶出量が約 20 ppm 以下である請求項 1 又は 2 に記載のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器。

【請求項 4】 上記多価金属イオンが亜鉛イオン又はアルミニウムイオンであることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれかに記載のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器。

【請求項 5】 ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の注射用カートリッジ

であって、

第 1 の開口部と第 2 の開口部とを有するとともに、これら第 1 の開口部と第 2 の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器と、

注射針の刺通可能な厚みを有し、上記第 1 の開口部を閉鎖する第 1 の閉鎖部材と、

上記筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続したシールを形成した状態で上記内腔に沿って移動可能に設けられ、上記第 1 の閉鎖部材との間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容する密閉空間を形成する第 2 の閉鎖部材とを有し、

上記第 2 の閉鎖部材は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とするヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の注射用カートリッジ。

【請求項 6】 上記第 1 の閉鎖部材が、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする請求項 5 に記載のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の注射用カートリッジ。

【請求項 7】 ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存方法であって、

第 1 の開口部と第 2 の開口部とを有するとともに、これら第 1 の開口部と第 2 の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器を用意し、

上記筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続したシールを形成した状態で上記内腔に沿って移動可能にゴム栓を設け、これにより上記第 1 の開口部との間に空間を形成し、

上記空間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容し、

上記第 1 の開口部をキャップで閉鎖し、

上記ゴム栓は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1

m l に上記ゴム栓を一個浸漬し、温度 2 5℃で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 5 0 p p m 以下のゴムからなることを特徴とするヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存方法。

【請求項 8】 多価金属イオンキレート剤をヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤に添加することを特徴とする請求項 7 のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器、及びその注射用カートリッジ、並びにその保存方法。

【0 0 0 2】

【発明の背景】

ヒト成長ホルモン（以下、適宜「h G H」と記す。）は 1 9 1 個のアミノ酸残基からなる一本鎖のポリペプチドホルモンである。h G H はいくつかの分解経路、特に脱アミド化、凝集、沈殿、メチオニン残基の酸化、蛋白分解反応等を受ける。これら分解反応を回避するため、従来より h G H は凍結乾燥製剤として製剤化され、販売されていた。しかし、近年、使用方法を簡易化することにより患者のコンプライアンスを増す等の臨床的理由から溶液製剤の開発が期待され、いくつかの製剤が開発されている（特表平 7 - 5 0 9 7 1 9 号公報、特開平 8 - 9 2 1 2 5 号公報）。

【0 0 0 3】

これらの溶液製剤では、従来、凍結乾燥製剤に採用されていた弱アルカリ性の生理的 p H : p H 7 ~ 7 . 5 よりやや低い p H (p H 6 ~ 7) の弱酸性緩衝剤が採用されている。弱アルカリ性では、溶液での保存中に h G H の脱アミド化が生じうるためである。ただし、p H 6 ~ 7 の弱酸性では、h G H は沈殿を起こしやすい傾向にあり、長期保存には界面活性剤などの添加が必須とされていた。また、界面活性剤を添加しても、なお、h G H 溶液長期保存中には、条件によっては

、h G Hの沈殿や白濁が起こることを本発明者らは経験したが、この現象の原因については従来まったく解明されていなかった。

【0004】

一方、一般に注射用溶液製剤に使用されるゴム栓またはゴムプランジャ（以下、必要に応じて、ゴム栓とゴムプランジャを含めて「ゴム栓」と記す。）は、凍結乾燥製剤の容器に使用される場合に比較して溶液に接触する時間が長いため、ゴム栓の材質等に起因する品質上の問題が発生することが多い。ゴム栓に関する問題点としてはゴム栓付着異物、コアリング、吸着等が挙げられるが、溶液製剤で特に問題となるのは、ゴム栓からの溶出物が及ぼす主薬の品質への影響である。ゴム栓は化学的にも物理的にもかなり複雑な性質を示すものであり、ゴム栓からの溶出性物質についても各種のものが認められている。例えば、Gramiccioni, L. らにより報告されている（Chromatographia, 28（'89）545-550）。しかしながら、このゴム栓からの溶出性物質のうち何が、h G H溶液製剤、特に弱酸性溶液製剤にどのような影響を与えるのか、今まで検討されたことは無く、発明者の知る限り報告されていない。

【0005】

そこで、発明者らは鋭意検討した結果、h G H溶液製剤を安定に保存するためには製剤容器、特にゴム栓の材質が重要であることを見いだした。すなわち、長期保存中にゴム栓から金属イオンが溶出し、溶出した金属イオンとh G Hが複合体を生成することを発見した。この知見に基づき、h G H溶液製剤の品質の低下を防止するためには、特定の条件下で金属イオン（特に、亜鉛イオン及び／またはアルミニウムイオン）の溶出が一定量以下のゴム栓を使用することが必須であることを見だし、本発明に至った。

【0006】

【発明の概要】

具体的に、本発明に係るヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器は、第1の開口部と第2の開口部とを有するとともに、これら第1の開口部と第2の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器と、第1の開口部を閉鎖する第1の閉鎖部材と、筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続

したシールを形成した状態で内腔に沿って移動可能に設けられ、第 1 の閉鎖部材との間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容する密閉空間を形成する第 2 の閉鎖部材とを有する。そして、第 2 の閉鎖部材は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする。

【0007】

本発明に係る他の形態のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器は、第 1 の閉鎖部材が、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃ で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする。

【0008】

本発明に係る他の形態のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器は、多価金属イオンの溶出量が約 20 ppm 以下であることを特徴とする。

【0009】

本発明に係る他の形態のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器において、上記多価金属イオンが亜鉛イオン又はアルミニウムイオンであることを特徴とする。

【0010】

本発明に係るヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の注射用カートリッジは、第 1 の開口部と第 2 の開口部とを有するとともに、これら第 1 の開口部と第 2 の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器と、注射針の刺通可能な厚みを有し、第 1 の開口部を閉鎖する第 1 の閉鎖部材と、筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続したシールを形成した状態で内腔に沿って移動可能に設けられ、第 1 の閉鎖部材との間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容する密閉空間を形成する第 2 の閉鎖部材とを有する。第 2 の閉鎖部材は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の

閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする。

【0011】

本発明に係る他の形態のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の注射用カートリッジは、第 1 の閉鎖部材が、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml に上記第 2 の閉鎖部材を一個浸漬し、温度 25℃で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする。

【0012】

本発明に係るヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存方法は、第 1 の開口部と第 2 の開口部とを有するとともに、これら第 1 の開口部と第 2 の開口部とを接続する内腔を有する筒状容器を用意する工程と、筒状容器の内腔にこの内腔を形成している内壁との間に周方向に連続したシールを形成した状態で内腔に沿って移動可能にゴム栓を設け、これにより上記第 1 の開口部との間に空間を形成する工程と、この空間にヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤を収容する工程と、第 1 の開口部をキャップで閉鎖する工程とを有する。そして、ゴム栓は、界面活性剤を含みかつ pH が約 5.5 から 6.5 の緩衝溶液 1 ml にゴム栓を一個浸漬し、温度 25℃で 1 週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約 50 ppm 以下のゴムからなることを特徴とする。

【0013】

本発明に係るヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存方法の他の形態は、多価金属イオンキレート剤をヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤に添加することを特徴とする。

【0014】

なお、本明細書で用いる「界面活性剤を含む緩衝溶液」等の用語は以下の通り定義される。「界面活性剤を含む緩衝溶液」：クエン酸系、リン酸系、グリシン

系、トリス系等の緩衝剤、塩化ナトリウム等の等張化剤、及びポリソルベート 80、ポリソルベート 20、ポロキサマー 188 等の界面活性剤、その他必要に応じて保存剤等を含む溶液を意味する。好ましい界面活性剤としてはポリソルベート 20、ポロキサマー 188 等が挙げられる。

【0015】

「ゴム栓あるいはゴムプランジャ」：注射用バイアルのゴム栓あるいはコンビニエンス注射製剤のカートリッジに用いられるプランジャ。すなわち、ゴム栓は hGH 溶液をバイアル容器に充填した場合に無菌的に封栓するのに利用されるゴム製の密栓をいう。ゴムプランジャは、hGH の投与器具に利用される hGH 溶液充填用カートリッジに使用される、無菌的封栓用のゴム製の密栓をいう。

【0016】

「hGH」：ヒト成長ホルモン (hGH) は、下垂体性小人症の治療剤として 20 年近く前に実用化されており、種々の医薬製剤が市販されている。本出願において、hGH とは、ヒト下垂体由来 hGH タンパク (191 アミノ酸、分子量約 22,000) の他に、生物学的に固有の生物学的活性を有するヒト成長ホルモン等価物 (例えば、hGH 全配列中で一つまたはそれ以上のアミノ酸が異なっている置換改変体、付加改変体、除去改変体) を包含する。なお、hGH 固有の生物学的活性とは、主として成長期にある、ヒトの脳を除く全組織 (特に骨) を成長させる総合的な成長促進活性を意味し、IGF-I 誘導を介した骨や軟骨の増殖促進作用、アミノ酸の細胞への取り込みとタンパク合成の促進、タンパク分解の抑制作用、中性脂肪代謝促進作用、糖代謝促進作用、電解質貯留促進作用なども含む。

【0017】

「hGH 含有弱酸性溶液製剤」：hGH を有効成分として含有し、pH 5.5～7 の緩衝剤を含む溶液製剤。hGH 溶液製剤で適当な pH 範囲は 5.5～7.0 であり、さらに有利には 6.0 であることが報告されている (特表平 7-509719)。

【0018】

「保存容器」：バイアルあるいは注射用カートリッジなど、医薬製剤の分野で

通常用いられている液剤保存容器。

【0019】

【発明の効果】

このような構成を採用した本発明のヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤の保存容器、及びその注射用カートリッジ、並びにその保存方法によれば、ヒト成長ホルモンを含む保存容器内に白濁は見られず、物理的、化学的に安定なhGH溶液製剤の供給が可能となった。

【0020】

【発明の実施の形態】

以下、添付図面を参照し、本発明の実施形態を説明する。図1は、本発明に係る保存容器を示す。保存容器10は略円筒状の容器本体12を有する。容器本体12は内腔14を形成しており、この内腔14は端部の開口部16、18で開放されている。なお、本実施形態では、容器本体12の一端が縮径されて口部20としてある。口部20は、薄肉のゴム製キャップ22と、このゴム製キャップ22を覆う金属製キャップ24が装着されている。これらのキャップ22、24は、図示するように、金属製キャップ24の筒部とその筒部端部を口部20に向けて押圧し変形することで固定されている。金属製キャップ24は、容器本体12のほぼ中心軸上に、開口部16に対向する開口部26を有し、この開口部26を介してゴム製キャップ22に針を通し、内部の液体を取り出すことができるようにしてある。

【0021】

容器本体12の内腔14には、他方の開口部18から、略円柱状のゴム栓28又はゴムプランジャが装入されている。ゴム栓28は、容器本体12から取り出した状態で、容器本体12の内腔14の内径よりも僅かに大きな外径を有する。したがって、ゴム栓28を容器本体12の内腔14に挿入した状態で、この内腔14を形成している内壁30とゴム栓28の外周面との間には連続したシールが形成され、これにより、ゴム製キャップ26とゴム栓28との間に密閉した部屋32が形成され、この部屋32に液体、すなわちヒト成長ホルモン水溶液（ヒト成長ホルモン含有弱酸性溶液製剤）34が収容されている。

【0022】

ヒト成長ホルモン水溶液 34 を容器本体 12 に封入する場合、開口部 16 にキャップ 26、28 を未装着の状態で、開口部 18 からゴム栓 28 を挿入する。次に、ヒト成長ホルモン水溶液 34 を、開口部 16 から容器本体 12 内に注入する。最後に、この開口部 16 をゴム製キャップ 22、金属製キャップ 24 で覆い、この金属製キャップ 24 の筒部先端部をそれぞれ口部 20 に向けて変形して閉鎖される。または開口部 16 をゴム製キャップ 22、金属製キャップ 24 で覆い、この金属製キャップ 24 の筒部先端部を口部 20 に向け変形して閉鎖する。次にヒト成長ホルモン水溶液 34 を開口部 18 から容器本体 12 内に注入する。最後に開口部 18 からゴム栓 28 を圧縮変形しながら挿入する。

【0023】

このような構成を有する保存容器 12 に収容されたヒト成長ホルモン水溶液 34 は、例えば、Disetronic 社から「Pen 100 S」の商品名で提供されている図 2 の注射器装置（投与機器）40 を用いて患者に注射される。この注射器装置 40 は、保存容器 10 を収容するホルダ 42 と、このホルダ 42 の後端に連結されるアクチュエータ 44 とからなる。使用時、保存容器 10 は、ホルダ 42 に挿入され、このホルダ 42 の後端にアクチュエータ 44 が連結される。また、ホルダ 42 の先端にはキャップ 46 が装着される。このキャップ 46 は、端面に針 48 を備えており、この針 48 の両端が内側の端面と外側の端面からそれぞれ突出しており、内側の端面から突出した針 48 の一端がゴム製キャップ 22 に刺通される。この状態でアクチュエータ 44 を作動し、保存容器 12 のゴム栓 28 を押圧する。これにより、保存容器 10 内のヒト成長ホルモン水溶液 34 が針 48 を通じて送り出される。

【0024】

以下、保存容器 12 のゴム栓について詳細に説明する。ゴム栓の材質は、医療用ゴム栓に使用しうる材質であれば、特に制限されない。基本エラストマとしてブチルゴム、塩素化ブチルゴム、ブタジエンゴム等が知られているが、いずれも用いることができる。また、ゴム栓（あるいはプランジャ）は、バイアル、注射用カートリッジと組み合わせて用いられるが、これらの材質、形状は特に限定さ

れない。一般的に使用されるガラスのほか、ポリプロピレンなど合成樹脂も使用可能である。

【0025】

本発明の液剤保存容器に適したゴム栓は下記の試験によって、選別される。

(1) 界面活性剤を含む緩衝溶液 (pH 6) を調製し、1 ml をガラス製バイアルに入れる。なお、上記緩衝溶液には、適宜、等張化剤、安定化剤、保存剤、酸化防止剤、溶解補助剤、賦形剤等を添加してもよい。原則的には、目的とする hGH 溶液製剤の組成、保存条件、使用方法等により試験条件も変えうるが、ゴム栓からの溶出成分を厳密に評価する意味から言えば、キレート剤など金属イオンに影響を与える薬剤は添加しないほうがいい。

(2) 上記バイアルにゴム栓 (約 1 g) を 1 個浸漬し、25℃で 1 週間振とう保存する。

(3) 緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法により測定する。

(4) 多価金属イオン、特に亜鉛および／またはアルミニウムの溶出量が 50 ppm 以下であるゴム栓を選ぶ。好ましくは、上記条件でゴム栓 1 個あたりの亜鉛および／またはアルミニウムイオンの溶出量が 20 ppm 以下のものを選別する。

【0026】

(5) ゴム栓材質が上記の基準を満たさない場合、表面処理によって、本発明の保存容器に適した性質に変えることも可能である。例えば、公知の方法をもって、フッ素樹脂ラミネートやプラスチック、多量のシリコン、その他高分子をコーティングすることにより、ゴム栓と hGH 溶液の直接の接触を防止し、ゴム栓からの金属イオンの溶出を抑える事ができる。これら常法によりコーティングされたゴム栓は、(1) から (4) の試験によって評価され、同様の基準にて選別、本発明の容器に採用しうるものである。

【0027】

なお、単なるバイアル用ゴム栓と異なり、プランジャは、使用時にカートリッジ内部を移動すること及び投与量を決定するという機能上の特性から、単なるバイアル栓よりも硬い (一般にゴムへの添加物が多い) 材質が用いられる。摩擦に

よりはげ落ちる可能性が有る多量シリコンによるコーティングなどの表面加工は一般に好まれないが摩擦を軽減するために少量のシリコンにてコーティングすることは可能である。従って、本発明の実施に適合するプランジャは、通常のバイアル用ゴム栓よりも厳しい基準をクリアするものが好ましい。具体的には、上記(1)～(3)の試験を行い、亜鉛、アルミニウムイオンの濃度がいずれも20 ppm以下のものを用いるべきである。

【0028】

以下、保存容器のゴム栓に関して行った実験を説明する。

1) 分析方法

①金属イオン含量

溶液中の金属イオン定量は常法により原子吸光法を用いた。

②hGH含量、重合体含量

サイズ排除クロマトグラフィーは200 mMのリン酸ナトリウム (pH 6.8) / 0.1% SDS / 0.04% ポリソルベート 20 を移動相とし、TSK G 2000 SWXL を用いて行った。その流量は0.7 mL/min であり、214 nm で検出した。

③脱アミド体含量

1.0 mL/min の流量、40℃でTSK DEAE 3 SW カラム (0.75 mm * 7.5 cm) を使い、陰イオン交換クロマトグラフィー (HPIEC) を行った。このカラムは25 mM のピストリスバッファー (pH 5.8) で平衡とした。25 mM ピストリスバッファー / 0.5 M 塩化ナトリウムの40 min グラジエントを使用し溶離を行った。280 nm で検出した。

【0029】

2) 実験方法

①実験1 hGH に対する金属イオンの影響

10 mM クエン酸緩衝溶液 1 mL (pH 6.0) に、hGH 5.0 mg、塩化ナトリウム 8.77 mg、フェノール 2.5 mg、ポリソルベート 20 2.0 mg を含む溶液 1 mL をガラス瓶に無菌的に充填した。酢酸亜鉛、塩化アルミニウム、塩化カルシウム及び塩化マグネシウムを溶解した溶液を金属イオン濃

度として所定濃度となるように上記サンプルに無菌的に添加し、溶状の変化を観察した。

②実験2 ゴム栓からの金属イオンの溶出

10 mMクエン酸緩衝溶液1 mL (pH 6.0) に、塩化ナトリウム 8.77 mg、フェノール 2.5 mg、ポリソルベート20 2.0 mgを含む溶液1 mLをガラス瓶に無菌的に充填した。各種ゴム栓 (B社製ゴム栓B1、A社製ゴム栓A1、A2、A3、A4) 1個を上記サンプルにつけ込み、室温下、1週間振とう保存した。その後、溶液中の金属イオン濃度を測定した。

【0030】

③実験3 hGHに対するゴム栓の影響

10 mMクエン酸緩衝溶液1 mL (pH 6.0) に、hGH 5.0 mg、塩化ナトリウム 8.77 mg、フェノール 2.5 mg、ポリソルベート20 2.0 mgを含む溶液1 mLをガラス瓶に無菌的に充填した。金属イオンの溶出量が多いゴム栓 (B社製ゴム栓B1) を上記サンプルにつけ込み、エチレンジアミン4酢酸2ナトリウムを200 ppm添加した。室温、1週間保存後の溶状の変化を観察した。

④実験4 hGHに対する各種ゴム栓の影響

10 mMクエン酸緩衝溶液1 mL (pH 6.0) に、hGH 5.0 mg、塩化ナトリウム 8.77 mg、フェノール 2.5 mg、ポリソルベート20 2.0 mgを含む溶液1 mLをガラス瓶に無菌的に充填した。各種ゴム栓をhGH溶液につけ込んだ。調製したサンプルを5℃及び25℃条件下1ヶ月間保存し、pH変化、含量変化、脱アミド体含量、重合体含量を測定した。

【0031】

3) 実験結果

①実験1 hGHに対する金属イオンの影響

亜鉛イオン、アルミニウムイオンについてはそれぞれ100 ppm、50 ppmを添加したサンプルについて白濁が認められた。一方、マグネシウムイオン、カルシウムイオンを添加したサンプルでは白濁は認められなかった (表1)。

【0032】

【表 1】

表 1

金属 イオン	添加 濃度	0 ppm	20 ppm	50 ppm	100 ppm
Zn^{2+}	性状	澄明	澄明	澄明	白濁
	pH	6.06	-	6.00	5.97
Al^{3+}	性状	澄明	澄明	白濁	白濁
	pH	6.03	-	5.82	5.58
Mg^{2+}	性状	澄明	澄明	澄明	澄明
	pH	6.08	-	-	-
Ca^{2+}	性状	澄明	澄明	澄明	澄明
	pH	6.05	-	-	-

【0033】

②実験 2 ゴム栓からの金属イオンの溶出

B社製ゴム栓B1では亜鉛イオン、アルミニウムイオンの溶出量が他のゴム栓に比べ顕著に高かった（表2）。

【0034】

【表 2】

表 2

ゴム栓	Zn^{2+}	Al^{3+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}
B1	82.7	2.5	0.2	0.0
A1	0.4	0.2	0.4	0.0
A2*	0.3	0.0	0.1	0.0
A3*	17.3	1.5	0.4	0.0
A4*	3.9	1.1	0.1	0.0

注：溶出量の単位：ppm/個

ゴム栓重量は約850mg/個を使用

*のゴム栓は重量約 240 mg/個を使用

【0035】

③実験3 hGHに対するゴム栓の影響

B社製ゴム栓B1をつけ込んだサンプルでは保存中に白濁が認められた。しかし、キレート剤であるエチレンジアミン4酢酸2ナトリウムを添加し、B社製ゴム栓B1をつけ込んだサンプルでは白濁は認められず澄明であった(表3)。

【0036】

【表3】

表3

	ゴム栓なし	ゴム栓あり*
EDTA 0ppm	澄明	白濁
EDTA 200ppm	澄明	澄明

*) B社製 ゴム栓B1

室温1W静置保存後

【0037】

④実験4 hGHに対する各種ゴム栓の影響

B社製ゴム栓B1をつけ込んだサンプルでは保存中に白濁が認められ、含量の低下が認められた(25℃*1M)。また、B社製ゴム栓B1をつけ込んだサンプルでは溶液のpHが上昇し、脱アミド体、重合体含量の生成が顕著であった。

【0038】

【表 4】

表 4

ゴム栓	保存条件	pH	溶状	hGH含量 ¹⁾	脱アミド体含量 ²⁾	重合体含量
B 1	5℃*1M	6.72	澄明	100 %	2.8 %	0.8 %
	25℃*1M	7.75	白濁	81 %	20.5 %	10.4 %
A 3	5℃*1M	6.17	澄明	99 %	2.8 %	0.3 %
	25℃*1M	6.30	澄明	102 %	10.7 %	1.0 %
A 4	5℃*1M	6.20	澄明	99 %	3.0 %	0.3 %
	25℃*1M	6.41	澄明	101 %	11.7 %	0.6 %
A 1	5℃*1M	6.15	澄明	100 %	3.0 %	0.2 %
	25℃*1M	6.21	澄明	100 %	10.7 %	0.5 %
なし	5℃*1M	6.08	澄明	100 %	3.2 %	0.4 %

1) hGH含量はゴム栓を含まない5℃*1M保存後のサンプル含量を100%として計算。

2) 脱アミド体含量はサイクリックイミド体を含む。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明に係る保存容器の一部を断面で表わした側面図。

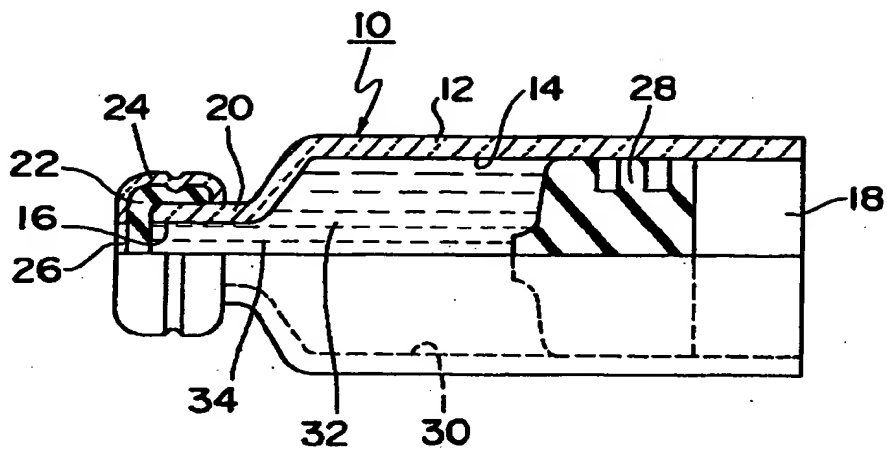
【図 2】 図 1 に示す保存容器の使用状態を示す斜視図。

【符号の説明】

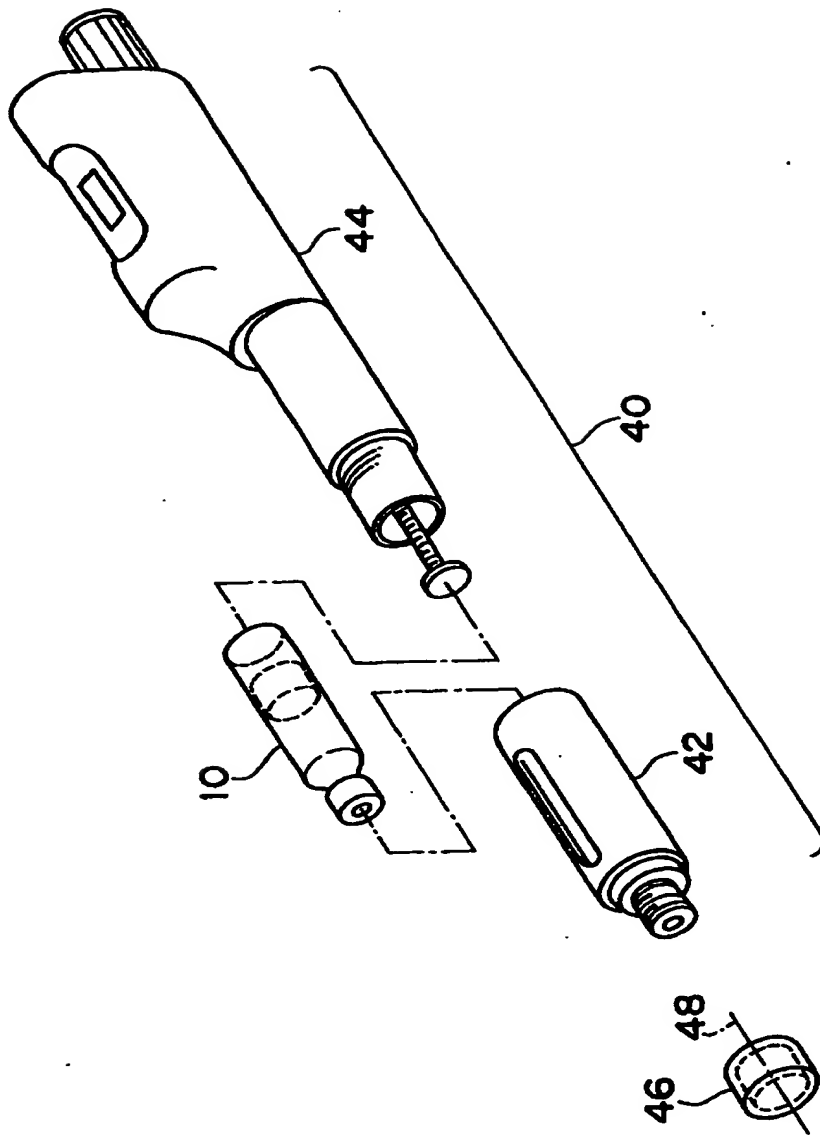
10…保存容器、12…容器本体、14…内腔、16、18…開口部、22…ゴム製キャップ、24…金属製キャップ、28…ゴム栓、34…ヒト成長ホルモン水溶液。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 hGH溶液保存中に、hGHの凝集や白濁を生じることのない保存容器を提供する。

【解決手段】 ゴム栓を、界面活性剤を含みかつpHが約5.5から6.5の緩衝溶液1mlに上記第2の閉鎖部材を一個浸漬し、温度25℃で1週間振とう保存した後、上記緩衝溶液中の金属イオンの溶出量を原子吸光法で測定した場合、多価金属イオンの溶出量が約50ppm以下のゴムで形成した。

【選択図】 図1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000183370]

1. 変更年月日 1990年 8月 9日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号

氏 名 住友製薬株式会社